

# Występowanie bakterii chorobotwórczych w tuszach wołowych i związane z tym zagrożenie zdrowia konsumentów\*)

KINGA WIECZOREK, EDYTA DENIS, JACEK OSEK

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego  
– Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Wieczorek K., Denis E., Osek J.

## Occurrence of pathogenic bacteria in bovine carcasses and the related health threat to consumers

### Summary

The aim of the study was to investigate the prevalence of human pathogenic bacteria *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *Campylobacter* and verotoxigenic *E. coli* (VTEC) in bovine carcasses and to assess the related health threat to consumer. The examined material consisted of 276 samples collected as swabs with sterile sponges from carcasses directly after evisceration in slaughterhouses, from 400 cm<sup>2</sup> of the brisket area. The samples were analyzed at a laboratory for the identification of the four above-mentioned pathogens by slightly modified ISO methods and molecular techniques. The bovine carcasses were mostly contaminated with VTEC (30 positive samples, 10.9%) as found by the amplification of the Shiga toxin *stx* gene by the PCR technique. The other microorganisms were identified in smaller proportions of the carcasses. Eight samples (2.9%) proved positive for *Campylobacter* spp., 7 (2.5%) for *L. monocytogenes*, and 5 (1.8%) were contaminated with *Salmonella* spp. The influence of the animals' age on the carcass contamination was also analyzed: it was noted that the majority of isolates were present in samples recovered from cattle over 6 years old. Moreover, the influence of seasonality on the occurrence of the pathogens in the carcasses was tested, and it was demonstrated that the majority of *L. monocytogenes* were isolated in October and November. In the case of VTEC, most of the bacteria were isolated from the carcasses in October, November and December (83.3% of the isolates) whereas no VTEC was found in winter (January–March) and spring (April–June). Most of the *Salmonella* spp. positive samples (4 out of 5 carcasses) were found in the period of May–July. No seasonality was found in the case of *Campylobacter* spp. present in the bovine carcasses tested.

The results of the study show that bovine carcasses are quite frequently contaminated with pathogenic microorganisms which may be a source of food-borne diseases. Taking this into account, proper hygiene throughout the entire food chain, especially at the stage of carcass processing in slaughterhouses, is necessary to protect the health of consumers.

**Keywords:** Pathogenic bacteria, bovine carcasses, identification, seasonality, consumer health protection

Bakterie chorobotwórcze, takie jak: *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Listeria* oraz werotoksyczne *Escherichia coli* (VTEC), które mogą być obecne w żywności, stanowią istotne zagrożenie dla zdrowia konsumentów, a dodatkowo są przyczyną poważnych strat ekonomicznych. Ich patogenne działanie polega na bezpośrednim wpływie na organizm człowieka albo też pośrednim, poprzez wytwarzane i uwalniane w żywności lub w przewodzie pokarmowym toksyny. Rezerwuarem wyżej wymienionych drobnoustrojów mogą być zwierzęta hodowlane, w tym bydło. Zachorowania po spożyciu zanieczyszczonej żywności pochodzenia zwierzęcego, zawierającej zwłaszcza bakterie należące do rodzaju *Salmonella* lub *Campylobac-*

*ter*, są wciąż istotnym problemem zdrowotnym w krajach Unii Europejskiej (UE), w tym w Polsce (20). Ich ograniczenie zależy w dużym stopniu od przestrzegania zasad higieny w czasie uboju zwierząt i obróbki poubojowej oraz właściwych procesów technologicznych w trakcie przygotowywania i obróbki żywności. Według raportu Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (European Food Safety Authority, EFSA), w 2007 r. kamylobakterioza i salmonelloza były najczęściej notowanymi zoonozami w krajach UE, ze współczynnikami zapadalności, odpowiednio, 45,2 oraz 31,1 na 100 000 mieszkańców (20). Informacje dotyczące Polski wskazują na znacznie niższy odsetek zachorowań w odniesieniu do kamylobakteriozy. Oficjalne dane w naszym kraju podają, że w 2007 r. odnotowano tylko 192 przypadki tej choroby u ludzi (wskaźnik 0,5/100 000). Wy-

\*) Badania finansowane w ramach EU FP6 Integrated Project *ProSafeBeef*, contract No. FOOD-CT-2006-36241.

daje się jednak, że jest to wartość zdecydowanie niedoszacowana, wynikająca głównie z niedostatecznej identyfikacji czynnika chorobotwórczego. Natomiast częstotliwość zachorowań na salmonellozę była w 2007 r. w Polsce zbliżona do średniej europejskiej (29,3/100 000) (20).

Kampylobakterioza wywoływana jest przez bakterie z rodzaju *Campylobacter*, przede wszystkim gatunki *C. jejuni* i *C. coli*. Objawy chorobowe dotyczą głównie przewodu pokarmowego, sporadycznie mogą się pojawić powikłania w postaci zapalenia stawów czy zaburzeń neurologicznych (zespół Guillain-Barre) (15). Salmonelloza wywoływana jest z kolei głównie przez serotyp *S. enterica*, wśród którego w żywności pochodzenia zwierzęcego dominują serowary Enteritidis i Typhimurium. Szczególnie występowanie tego ostatniego serowaru u bydła i związane z tym zanieczyszczenie tusz wołowych jest przyczyną zachorowań ludzi po spożyciu mięsa wołowego (13). Choroba przebiega zwykle łagodnie, a objawy mijają po kilku dniach. W niektórych przypadkach może jednak dojść do uogólnienia procesu chorobowego, a ok. 4% takich infekcji kończy się zejściem śmiertelnym (21). Patogeny, takie jak werotoksyczne *E. coli* (VTEC) czy *L. monocytogenes* występują zdecydowanie rzadziej i przez to współczynnik zachorowań jest niższy – odpowiednio: 0,6 i 0,3/100 000 (20). Drobnoustroje te są jednak przyczyną poważniejszych schorzeń, z których stosunkowo duży odsetek stanowią przypadki śmiertelne (od 10% w przypadku VTEC i do 20% dla schorzeń wywołanych przez *L. monocytogenes*). VTEC charakteryzują się zdolnością wytwarzania cytotoksyn wero, zwanych również toksynami Shiga. Wyodróżniono ponad 150 różnych serotypów VTEC mających zdolność wywoływania schorzeń pokarmowych u ludzi (4, 7). Powikłania, np. w postaci hemolitycznego zespołu mocznicowego (Haemolytic Uraemic Syndrome, HUS) występują głównie w przypadku zakażenia serotypem O157:H7, ale też inne grupy serologiczne *E. coli* są izolowane od ludzi z tą formą choroby (4). Czwartym wspomnianym patogenem – *L. monocytogenes* jest drobnoustrojem szeroko rozpowszechnionym w przyrodzie. Cechą charakterystyczną tych bakterii jest zdolność do namnażania w temperaturze 2-4°C, stąd też źródłem zakażenia człowieka jest najczęściej przechowywana w tych warunkach żywność. Listerioza u ludzi występuje stosunkowo rzadko, ale przebiega z wysoką śmiertelnością. Zakażenie jest szczególnie niebezpieczne dla osób z osłabionym układem odpornościowym (15).

Biorąc powyższe pod uwagę konieczne jest stałe monitorowanie występowania bakterii chorobotwórczych w produktach pochodzenia zwierzęcego na poszczególnych etapach łańcucha żywnościowego. Niestety, dostępne dane z tego zakresu są w zdecydowanej większości przypadków jedynie cząstkowe, np. dotyczą jednego patogenu lub etapu produkcji. Dodatkowo, obserwowana przez różnych badaczy częstotliwość występowania bakterii chorobotwórczych różni się znacząco w zależności od przyjętych założeń w poszczególnych programach badań. Na te rozbieżności mają wpływ przede wszystkim odmienne techniki stosowane do wykrywania i identyfikacji patogenów oraz miejsce pobrania próbek, zarów-

no w przypadku łańcucha produkcji żywności, jak i części tuszy badanego zwierzęcia.

Celem badań było określenie występowania *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* oraz VTEC w tuszach wołowych w Polsce w oparciu o ujednoliconą procedurę badań wykonywaną w ramach europejskiego projektu *ProSafeBeef*.

## Materiał i metody

**Pobieranie próbek.** Materiałem do badań było 276 próbek w postaci wymazów z tusz wołowych uzyskiwanych bezpośrednio na linii ubojowej. Wymazy pobierano przy użyciu sterylnej gąbki, z zewnętrznej powierzchni tuszy, po wytrzymaniu, z okolicy mostka, o łącznej powierzchni 400 cm<sup>2</sup>. Próbkę pobierano od listopada 2007 do grudnia 2008 r., w trzech reżimach zlokalizowanych w województwie lubelskim. Badania prowadzono w kierunku oznaczenia obecności czterech patogenów: *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. oraz werotoksycznych *E. coli* (VTEC).

**Analiza mikrobiologiczna.** Wymazy, umieszczone w pojemnikach z wkładami chłodzącymi, transportowano do laboratorium, gdzie do każdej próbki dodawano 200 ml płynu do rozcieńczeń (MRD, Oxoid, UK), homogenizowano, a następnie każdą próbkę odwirowano przy 5000 g przez 10 min. Do wykrywania drobnoustrojów wykorzystano metody znormalizowane ISO, wprowadzając modyfikacje usprawniające badania. W przypadku identyfikacji *Campylobacter* wyrosłe na pożywkach stałych kolonie zawieszano w 1 ml jałowej wody, wirowano przy 13 000 g przez 3 min., a następnie izolowano DNA za pomocą zestawu Genomic Mini (A&A Biotechnology, Poland), postępując zgodnie z instrukcją producenta. Przynależność gatunkową określano techniką multiplex PCR opracowaną przez Wieczorek i Osek (22). Do identyfikacji gatunkowej *L. monocytogenes* wykorzystano test biochemiczny Api<sup>®</sup> *Listeria*. Kolonie *Salmonella* spp. potwierdzano testem biochemicznym Api<sup>®</sup>-ID 32E (bioMérieux, France). Do wykrywania obecności VTEC zastosowano technikę PCR opisaną we wcześniejszej pracy (14). DNA izolowano z hodowli bakteryjnej prowadzonej w płynnej pożywkę Tryptone Soya Broth (TSB, Merck, Germany), w 41,5°C przez 24 h. Następnie 1 ml hodowli wirowano przy 15 000 g przez 2 min., supernatant odwirowywano ponownie (13 000 g, 3 min.), a osad zawieszano w 1 ml PBS (Biochrom, UK). Po odwirowaniu (13 000 g, 3 min.) osad zawieszono w 1 ml jałowej wody, inkubowano przez 10 min. w 99°C (Thermomixer, Eppendorf, Germany) i wirowano przy 13 000 g przez 1 min. Uzyskany w powyższy sposób supernatant stanowił matrycę w reakcji PCR. W przypadku otrzymania w teście PCR wyniku dodatniego, hodowlę bakteryjną wysiewano na agar odżywczy (Nutrient Agar, Oxoid), a następnie izolowano zróżnicowane morfologiczne kolonie, z których uzyskiwano DNA stosowany do drugiej reakcji PCR w celu potwierdzenia przynależności izolatów bakteryjnych do VTEC.

## Wyniki i omówienie

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że najwięcej tusz wołowych było zanieczyszczonych przez werotoksyczne *E. coli* (tab. 1). Na podstawie wyników reakcji PCR w kierunku obecności genu *stx* toksyny Shiga, 30 z 276 (10,9%) próbek wykazywało obecność VTEC. Należy jednak podkreślić, że dane te opierają się na rezultatach pierwszej reakcji PCR, natomiast izolaty bakteryjne potwierdzone jako VTEC otrzymano jedynie w przypadku 4 z tych 30 próbek (13,3%), co wynika naj-

prawdopodobniej z użytej w obecnej pracy metodyki badań. Podobną sytuację opisali Cobbold i wsp. (5), którzy izolowali VTEC m.in. z tusz i mięsa wołowego. W przypadku obu rodzajów badanych matryc liczba próbek dodatnich, określona na podstawie wyniku testu PCR w kierunku genu *stx*, była zdecydowanie wyższa niż otrzymana

metodą izolacji i identyfikacji szczepów VTEC. Również inni autorzy stosowali do wykrywania *E. coli* nie należących do O157 reakcję PCR określającą występowanie genu *stx*, który jest najważniejszym czynnikiem wirulencji VTEC (2, 7). Jednak wiarygodność uzyskiwanych w ten sposób wyników zależy w dużym stopniu od czułości i prawidłowej optymalizacji testu. Należy podkreślić, że podobnie jak w prezentowanych badaniach własnych, izolacja szczepów VTEC z próbek dodatnich na podstawie reakcji PCR nie jest nigdy stuprocentowa i w dostępnych pracach zwykle wynosiła od kilku do kilkunastu procent (2). Występowanie VTEC, na podstawie danych z piśmiennictwa, określane na etapie obróbki w rzeźni, bardzo różniło się w zależności od etapu pobrania próbek oraz stosowanej metodyki badawczej. Dodatkowo, większość protokołów wykorzystywanych do identyfikacji bakterii umożliwia jedynie wykrycie serotypu O157:H7, który jest tylko jednym z wielu należących do grupy VTEC, a więc posiadającym gen *stx*. Należy również podkreślić, że nie tylko wymieniony serotyp jest odpowiedzialny za infekcje wśród ludzi (9, 10). Biorąc powyższe pod uwagę, co jest postulowane również przez innych autorów, konieczna jest standaryzacja metod badawczych dla innych niż O157 grup serologicznych w celu umożliwienia porównywania danych, jak również zwiększenia prawdopodobieństwa identyfikacji próbek dodatnich (4). Dostępne dane piśmiennictwa, obejmujące zwykle wymazy i wycinki z tusz bydła pobrane po etapie wytrzewienia wskazują, że zakres zanieczyszczenia przez VTEC wynosił 0,3-3,2% i był zdecydowanie niższy w porównaniu z próbkami pobranymi przed wytrzewieniem, np. 10% w przypadku badań prowadzonych w Stanach Zjednoczonych (18). Poziom zanieczyszczenia tusz szczepami VTEC uzyskany w obecnych badaniach własnych był wyższy (10,9%), ale nie odbiegał w znaczący sposób od danych przedstawionych w raporcie EFSA, który wynosił, w zależności od kraju, od 0% do 22%. Istnieją również inne dostępne dane, według których odsetek próbek dodatnich pobranych z tusz wołowych sięgał 23% (5). Taki wynik uzyskano na podstawie reakcji PCR w kierunku genu *stx*, natomiast analogiczne rezultaty otrzymane przy pomocy metody hodowlanej były zwykle niższe i wynosiły np. 5% w przypadku badań prowadzonych w Belgii (11).

Występowanie trzech pozostałych patogenów odnotowano na znacznie niższym poziomie; ich obecność wykryto jedynie w kilku tuszach (tab. 1). *Campylobacter* spp. stwierdzono, używając klasycznej metody mikrobiologicznej, w przypadku 8 z 276 (2,9%) próbek. W wyniku różnicowania gatunkowego techniką PCR 4 izolaty zostały zidentyfikowane jako *C. jejuni* i 4 jako *C. coli*. Podobny odsetek próbek dodatnich (2%) uzy-

**Tab. 1. Występowanie *Campylobacter* spp., *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i VTEC w tuszach wołowych**

Rodzaj próbek	Liczba próbek dodatnich w kierunku:			
	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	VTEC
Tusze wołowe	8/276 (2,9%)	7/276 (2,5%)	5/276 (1,8%)	30/276* (10,9%)

Objaśnienie: \* – wyniki uzyskane w pierwszej reakcji PCR

skali Beach i wsp. (3), którzy przebadali 100 tusz wołowych w kierunku obecności tego drobnoustroju. Zbliżony wskaźnik próbek dodatnich, w porównaniu z prezentowanymi obecnie badaniami własnymi, wykazali również Ghafir i wsp. oraz Mayrhofer i wsp. (odpowiednio: 3,3% i 2,4%) (6, 12). Wyższy poziom zanieczyszczenia tusz wołowych termotolerancyjnymi *Campylobacter* spp., wynoszący 10%, stwierdzono na podstawie badań prowadzonych w Belgii (11). Pomimo szerokiego występowania tych drobnoustrojów w przewodzie pokarmowym bydła, według niektórych danych sięgającego nawet powyżej 50%, stwierdza się stosunkowo niski poziom zanieczyszczenia tusz wołowych tymi patogenami. Może to wynikać m.in. z rygorystycznego przestrzegania procedur ubojowych w rzeźniach bydła, które mają na celu maksymalne ograniczenie zanieczyszczenia tusz kałem. Z drugiej strony, bakterie rodzaju *Campylobacter* są również drobnoustrojami stosunkowo wrażliwymi na wszelkie procesy dekontaminacji (16).

Niewiele jest dostępnych danych dotyczących występowania trzeciego z badanych w obecnej pracy patogenów – *L. monocytogenes*, zwłaszcza w odniesieniu do próbek pobranych z tusz wołowych bezpośrednio po wytrzewieniu. U bydła, w oparciu o raport EFSA, poziom ten wynosił od 0% do 18%. Jednak dane piśmiennictwa wskazują nawet na wyższy stopień zanieczyszczenia tusz wołowych przez *L. monocytogenes*. Na przykład, na podstawie badań prowadzonych w dziewięciu rzeźniach zlokalizowanych na terenie Belgii stwierdzono 22% próbek dodatnich. Autorzy sugerują nawet, że może to być główny patogen występujący w tego typu żywności pochodzenia zwierzęcego (11). Nieco niższy procent próbek dodatnich (12%) uzyskali natomiast Mayrhofer i wsp. (12). Dane pochodzące ze Stanów Zjednoczonych, odnoszące się do tusz przed wytrzewieniem, wskazują na niewielki poziom skażenia tymi drobnoustrojami wynoszący, w zależności od źródła, 1% lub 3,5% (18, 19). W obecnych badaniach stwierdzono zanieczyszczenie badanych tusz wołowych przez *L. monocytogenes* na poziomie 2,5% (tab. 1).

W prezentowanych obecnie wynikach wykazano, że najmniej spośród przebadanych próbek było dodatnich w kierunku *Salmonella* spp., jedynie 1,8%. Jest to jednak poziom wyższy do stwierdzanego średnio w krajach członkowskich UE. Według danych EFSA, występowanie *Salmonella* w tuszach wołowych kształtowało się w 2007 r. na poziomie poniżej 1% (20). Nie podano jednak, na jakim etapie procesu ubojowego pobierane były próbki do badań. W niektórych krajach, na przykład Hiszpanii, poziom ten przekraczał znacznie średnią europejską oraz był także wyższy niż odsetek wyników dodatnich otrzymanych w obecnych badaniach,

gdź wyniósł 6,7%. Dostępne dane piśmiennictwa, odnoszące się zarówno do próbek pobieranych w Europie, jak i w Australii, wskazują na bardzo niski odsetek tusz wołowych zanieczyszczonych *Salmonella* spp., oscylujący w okolicy 0% (11, 16, 17). Jednak inne doniesienia, np. ze Stanów Zjednoczonych wskazują, że tusze wołowe mogą być zanieczyszczone tym patogenem nawet na poziomie 20%, zwłaszcza w przypadku próbek pobieranych z powierzchni tusz przed wytrzewieniem (3, 13, 18). Natomiast po tym etapie odsetek wyników dodatnich był zdecydowanie mniejszy i wynosił od 1,3% (1) do 3,8% (19).

W trakcie analizy wyników obecnych badań wzięto pod uwagę także inne czynniki mogące mieć wpływ na częstotliwość występowania w tuszach identyfikowanych bakterii chorobotwórczych, takie jak wiek bydła czy okres, w którym pobierane były próbki. Tabela 2 przedstawia występowanie patogenów w zależności od wieku zwierząt. Wymazy pobierano z tusz wołowych w różnym wieku, jednak największą liczbę próbek uzyskano od zwierząt powyżej 6 lat – 174 (63%). Mniejsza liczba ubijanego bydła była w przedziale wiekowym 1-3 lat (52 sztuki, 18,8%) oraz 4-6 lat (30 zwierząt, 10,9%). W przypadku 20 próbek brak było danych odnośnie do wieku bydła użytego w badaniach.

Najbardziej zanieczyszczone były tusze pochodzące od najstarszych zwierząt, powyżej 6 roku życia, gdzie w przypadku 15,5% próbek stwierdzono obecność VTEC (27 z 174 tusz). Dodatkowo, 3,4% (6 z 174) tusz było kontaminowanych *L. monocytogenes*, a obecność *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. stwierdzono na poziomie, odpowiednio, 2,9% oraz 1,7% (tab. 2). Nieliczne dane piśmiennictwa wskazują, że zwiększone nosicielstwo VTEC występuje zwłaszcza wśród zwierząt młodych, jednak dotyczą one najczęściej serotypu O157, a źródłem powyższych informacji były próbki kału (8). Brak jest natomiast bliższych danych dotyczących zależności między wiekiem ubijanego zwierząt a obecnością w tuszach bydłowych innych, badanych w obecnej pracy patogenów pokarmowych.

W tab. 3 przedstawiono występowanie ocenianych drobnoustrojów w zależności od okresu pobierania pró-

Tab. 2. Występowanie patogenów w tuszach w zależności od wieku bydła

Wiek bydła (lata)	Liczba próbek	Liczba próbek dodatnich w kierunku:			
		<i>Campylobacter</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	VTEC*
1-3	52	2/52 (3,8%)	0/52	0/52	1/52 (1,9%)
4-6	30	0/30	1/30 (3,3%)	1/30 (3,3%)	2/30 (6,7%)
> 6	174	5/174 (2,9%)	6/174 (3,4%)	3/174 (1,7%)	27/174 (15,5%)
Brak danych	20	1/20 (5,0%)	0/20	1/20 (5,0%)	0/20

Objaśnienie: \* – jak w tab. 1

Tab. 3. Występowanie patogenów w tuszach w zależności od terminu pobierania próbek

Czas pobrania próbek	Liczba próbek	Liczba próbek dodatnich w kierunku:			
		<i>Campylobacter</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	VTEC*
XI-2007	10	–	–	–	1/10 (10,0%)
XII-2007	5	–	–	–	–
I-2008	29	1/29 (3,4%)	1/29 (3,4%)	–	–
II-2008	19	–	–	–	–
III-2008	7	–	–	–	–
IV-2008	6	–	–	–	–
V-2008	20	3/20 (15,0%)	–	2/20 (10,0%)	–
VI-2008	20	–	–	–	–
VII-2008	30	–	1/30 (3,3%)	2/30 (6,7%)	1/30 (3,3%)
VIII-2008	30	1/30 (3,3%)	–	–	2/30 (6,7%)
IX-2008	30	1/30 (3,3%)	–	–	1/30 (3,3%)
X-2008	20	–	4/20 (20,0%)	–	4/20 (20,0%)
XI-2008	20	1/30 (5,0%)	1/20 (5,0%)	–	9/20 (45,0%)
XII-2008	30	1/30 (3,3%)	–	1/30 (3,3%)	12/30 (40,0%)
Razem	276	8	7	5	30

Objaśnienie: \* – jak w tab. 1

bek do badań w ciągu roku. Zaobserwowano zwiększoną częstotliwość występowania *L. monocytogenes* w tuszach bydłowych w miesiącach jesiennych, w okresie od października do listopada. Stwierdzono w tym okresie większość (5 z 7 próbek dodatnich, 85,7%) przypadków zanieczyszczenia tusz tym drobnoustrojem. W pozostałych miesiącach tylko 2 tusze wykazywały obecność tego drobnoustroju (tab. 3).

Sezonowość występowania zaobserwowano również w przypadku werotoksycznych *E. coli*: od października do grudnia ich obecność wykryto w przypadku 25 spośród 30 (83,3%) wszystkich wyników dodatnich. Nie izolowano VTEC w miesiącach zimowych (sty-

czeń–marzec) ani w okresie wiosennym (kwiecień–czerwiec).

Większość (4 z 5 tusz) próbek dodatnich w kierunku *Salmonella* spp. stwierdzono w okresie maj–lipiec. Na tym etapie badań nie zaobserwowano natomiast sezonowości w występowaniu *Campylobacter* spp. w tuszach wołowych (tab. 3). Drobnoustroje te izolowano w różnych miesiącach roku, bez względu na występujące wtedy różnice w temperaturze zewnętrznej.

Sezonowość występowania zarówno *E. coli* O157:H7, jak i innych shigatoksycznych *E. coli* nie należących do tego serotypu została potwierdzona także przez innych autorów, chociaż zwykle wskazują oni na zwiększoną liczbę próbek dodatnich w miesiącach letnich i wczesnojesiennych, co jest też skorelowane ze zwiększoną liczbą zachorowań wśród ludzi (5, 7, 8). Dane te dotyczą jednak najczęściej wstępowania VTEC w próbkach kału pobranych od bydła, natomiast brak jest podobnych informacji dotyczących zanieczyszczenia tusz wołowych. Podobna sytuacja istnieje również w przypadku *Salmonella* spp. Niewiele jest dostępnych danych wskazujących na ewentualny związek pomiędzy porą roku i warunkami klimatycznymi a obecnością drobnoustrojów w próbkach pobieranych podczas obróbki tusz w rzeźni. W badaniach przeprowadzonych przez Barkocy-Gallagher i wsp. (2) stwierdzono, że występowanie *E. coli* O157:H7 było największe w miesiącach letnich i wiosennych, *Salmonella* spp. w okresie letnim, a w przypadku pozostałych VTEC nie należących do serotypu O157 wykazano jedynie niewielkie zmniejszenie liczby próbek dodatnich w zimie w porównaniu do pozostałych miesięcy. Z badań McEvoy'ego i wsp. (13) wynika natomiast, że więcej próbek dodatnich w kierunku *Salmonella* spp. izolowanych było w okresie od sierpnia do października.

Otrzymane wyniki dotyczące występowania czterech głównych patogenów pokarmowych w tuszach bydła są początkiem szerszych badań monitoringowych, a prace te będą kontynuowane również w latach następnych. Pozwoli to określić, czy zaobserwowana w pierwszym roku zwiększona częstotliwość występowania próbek dodatnich w pewnych okresach roku oraz związek pomiędzy wiekiem zwierzęcia a częstotliwością izolacji poszczególnych drobnoustrojów ma trwały charakter. Na podstawie dotychczasowych rezultatów i związanej z nimi zbyt małej liczby próbek trudno wyciągać jednoznaczne wnioski. Niemniej jednak można stwierdzić, że uzyskane do tej pory wyniki wskazują, że tusze wołowe mogą być zanieczyszczone drobnoustrojami chorobotwórczymi dla człowieka, takimi jak: VTEC, *Campylobacter* spp., *L. monocytogenes* czy *Salmonella* spp. Dlatego też ważne jest monitorowanie obecności występowania najbardziej istotnych z punktu widzenia zdrowia konsumentów bakterii na każdym etapie produkcji. Niniejsze badania są wykonywane w ramach europejskiego projektu *ProSafeBeef*, którego nadrzędnym celem jest poprawienie bezpieczeństwa i jakości wołowiny oraz produktów z niej pochodzących. Zebrane w oparciu u ujednoliconą metodykę dane posłużą do wykonania analizy ryzyka związanego ze spożyciem mięsa wołowego. Badania są kontynuowane i obejmują również inne etapy łańcucha

pokarmowego, w tym wołowe produkty mięsne. Prowadzone są również prace określające występowanie molekularnych czynników chorobotwórczości wyizolowanych szczepów bakteryjnych, co pozwoli na szerszą ocenę zagrożeń związanych z obecnością tych patogenów w żywności. Według wiedzy autorów, są to pierwsze, tak kompleksowe badania w Polsce.

## Piśmiennictwo

1. Bacon R. T., Sofos J. N., Belk K. E., Hyatt D. R., Smith G. C.: Prevalence and antibiotic susceptibility of *Salmonella* isolated from beef animal hides and carcasses. *J. Food Prot.* 2002, 65, 284-290.
2. Barkocy-Gallagher G. A., Arthur T. M., Rivera-Betancourt M., Nou X., Shackelford S. D., Wheeler T. L., Koohmaraie M.: Seasonal prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *J. Food Prot.* 2003, 66, 1978-1986.
3. Beach J. C., Murano E. A., Acuff G. R.: Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in beef cattle from transport to slaughter. *J. Food Prot.* 2002, 65, 1687-1693.
4. Bettelheim K. A.: Role of non-O157 VTEC. *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* 2000, 29, 38-50.
5. Cobbold R. N., Davis M. A., Rice D. H., Szymanski M., Tarr P. I., Besser T. E., Hancock D. D.: Associations between bovine, human, and raw milk, and beef isolates of non-O157 Shiga toxinigenic *Escherichia coli* within a restricted geographic area of the United States. *J. Food Prot.* 2008, 71, 1023-1027.
6. Ghafir Y., China B., Dierick K., De Zutter L., Daube G.: A seven-year survey of *Campylobacter* contamination in meat at different production stages in Belgium. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, 116, 111-120.
7. Gyles C. L.: Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J. Anim. Sci.* 2007, 85, 45-62.
8. Hancock D., Besser T., Lejeune J., Davis M., Rice D.: The control of VTEC in the animal reservoir. *Int. J. Food Microbiol.* 2001, 66, 71-78.
9. Jelacic J. K., Damrow T., Chen G. S., Jelacic S., Bietaszewska M., Ciol M., Carvalho H. M., Melton-Celsa A. R., O'Brien A. D., Tarr P. I.: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Montana: bacterial genotypes and clinical profiles. *J. Infect. Dis.* 2003, 188, 719-729.
10. Johnson K. E., Thorpe C. M., Sears C. L.: The emerging clinical importance of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Clin. Infect. Dis.* 2006, 43, 1587-1595.
11. Korsak N., Daube G., Ghafir Y., Chahed A., Jolly S., Vindevogel H.: An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. *J. Food Prot.* 1998, 61, 535-541.
12. Mayrhofer S., Paulsen P., Smulders F. J., Hilbert F.: Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *Int. J. Food Microbiol.* 2004, 97, 23-29.
13. McEvoy J. M., Doherty A. M., Sheridan J. J., Blair I. S., McDowell D. A.: The prevalence of *Salmonella* spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. *J. Appl. Microbiol.* 2003, 94, 693-700.
14. Osek J.: Identyfikacja shigatoksycznych *Escherichia coli* w tuszach wołowych metodą PCR. *Medycyna Wet.* 2008, 64, 179-182.
15. Osek J.: Występowanie chorób odzwierzęcych i ich czynników etiologicznych w 2006 r. w świetle raportu Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa Żywności. *Życie Wet.* 2008, 83, 192-201.
16. Pezzotti G., Serafini A., Luzzi I., Mioni R., Milan M., Perin R.: Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. *Int. J. Food Microbiol.* 2003, 82, 281-287.
17. Phillips D., Sumner J., Alexander J. F., Dutton K. M.: Microbiological quality of Australian beef. *J. Food Prot.* 2001, 64, 692-699.
18. Rivera-Betancourt M., Shackelford S. D., Arthur T. M., Westmoreland K. E., Bellingier G., Rossman M., Reagan J. O., Koohmaraie M.: Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. *J. Food Prot.* 2004, 67, 295-302.
19. Samadpour M., Barbour M. W., Nguyen T., Cao T. M., Buck F., Depavia G. A., Mazengia E., Yang P., Alfi D., Lopes M., Stopforth J. D.: Incidence of enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in retail fresh ground beef, sprouts, and mushrooms. *J. Food Prot.* 2006, 69, 441-443.
20. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. <http://www.efsa.europa.eu>.
21. Uradziński J., Wysok B.: Zagrożenia bezpieczeństwa żywności powodowane czynnikami zoonotycznymi. *Medicina Veterinaria* 2008, 7, 15-22.
22. Wieczorek K., Osek J.: Testy multiplex PCR do równoczesnej identyfikacji *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli*. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 797-799.

Adres autora: prof. dr hab. Jacek Osek, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: josek@piwet.pulawy.pl